

Z. klin. Chem. u. klin. Biochem.
8. Jg., S. 431—433, Juli 1970

Zur Methodik der Phenolrot¹⁾-Bestimmung im Serum

Von W. FABRICIUS²⁾ und B. MAROWSKI³⁾

Aus dem Institut für Klinische Chemie und Klinische Biochemie im Klinikum Steglitz der Freien Universität Berlin
(Direktor: Prof. Dr. H.-J. Dulce)

(Eingegangen am 31. März 1970)

Bei der Bestimmung der Phenolrotkonzentration im Serum nach einer von HÖFFLER und einer von der Firma Merck angegebenen Methode fiel uns eine Reihe teils unbewertbarer, teils auch sinnloser Analysenergebnisse auf. Wir entwickelten deshalb eine Methode, bei der das Serum verdünnt wird und außerdem durch Zugabe von alkalischem und saurem Puffer ein vollständiger Umschlag des Phenolrotes herbeigeführt wird. Nach der bisherigen Erfahrung verspricht diese Methode den Anforderungen der klinischen Routinediagnostik besser gerecht zu werden.

The determination of phenol red in serum

In the measurement of the concentration of phenol red in serum, using a method of HÖFFLER and a method from Merck, a series of partly uninterpretable and partly senseless results were obtained. A method was therefore developed in which the serum is diluted and the colour change of the phenol red is made complete by the addition of alkaline and acidic buffers. From experience so far, this method promises to be more satisfactory in meeting the requirements of routine clinical diagnosis.

In der klinischen Routinediagnostik wird die Ausscheidung des Phenolsulfonphthaleins zur Erfassung tubulärer Nierenfunktionsstörungen herangezogen. In der Modifikation von HÖFFLER und Mitarbeitern (1, 2) werden die Plasmakonzentrationen vor und 60 Min. nach Injektion von 60 mg Phenolsulfonphthalein als Phenolsulfonphthalein_{60/60} ermittelt.

Bei insgesamt 220 routinemäßigen Bestimmungen des Phenolsulfonphthaleins_{60/60} im Serum fiel uns die hohe Zahl von 22% nicht bewertbarer Analysenergebnisse auf. Zur Überprüfung dieser Fehlerrate verglichen wir die Phenolsulfonphthalein-Bestimmung nach HÖFFLER (1, 2) zunächst mit einer von der Firma Merck angegebenen Methode (3). Als diese Methode ebenfalls nicht bewertbare Analysenergebnisse lieferte und außerdem beide Methoden sehr schlecht miteinander korrelierten, versuchten wir, mit einer eigenen Methode die theoretisch möglichen Fehlerquellen auszuschalten. Die Ergebnisse dieser Methode zeigten zwar ebenfalls eine sehr schlechte Korrelation zu denen der beiden anderen Methoden, doch waren die Wiederauffindungsversuche gut und es traten keine sinnlosen Ergebnisse, wie z. B. negative Konzentrationen, mehr auf.

Material und Methoden

Das Phenolsulfonphthalein stammte von der Firma Merck, Darmstadt und war in Ampullen abgefüllt, die 60 mg Phenolsulfonphthalein als Natriumsalz in 10 ml dest. Wasser enthielten.

Den Patienten wurde 10 ml Blut aus der Armvene als Leerwert (L) entnommen und 60 mg Phenolsulfonphthalein als wäßr. Lösung injiziert. Nach 60 Min. wurde am anderen Arm eine weitere Blutprobe (P) zur Kontrolle der Ausscheidung entnommen.

Das Blut wurde von den Stationen und den Polikliniken des Hauses gesammelt und zum Chemischen Zentrallabor transportiert. In der Regel verstrichen bis zum Zentrifugieren oder bis zum Messen etwa 1 bis 3 Stdn.

¹⁾ Systematischer Name: Phenolsulfonphthalein, häufige Abkürzung: PSP.

²⁾ Gegenwärtige Anschrift: Siemens Aktiengesellschaft, ZN Berlin, VD, 1 Berlin 61, Schöneberger Str. 2-4.

³⁾ Gegenwärtige Anschrift: 1 Berlin 12, Windscheidstr. 12.

Bestimmung der Phenolsulfonphthalein-Konzentration:

1. Bestimmung nach HÖFFLER (1):

Es wird die Extinktion des abzentrifugierten Serums von Leerwert (L) und Probe (P) vor und nach Zusatz von 0,2 ml 1 N NaOH zu 2 ml Serum bei 546 nm und 1 cm Schichtdicke gemessen.

Berechnung: $(E_{P2} - E_{P1}) - (E_{L2} - E_{L1}) \cdot F_{PSPH} = \text{mg/l Phenolsulfonphthalein}_{60/60}$.

E = Extinktion, P = Kontrolle nach 60 Min., L = Leerwert, 1 = vor, 2 = nach Zusatz von NaOH, F_{PSPH} = Faktor, von HÖFFLER für Plasma empirisch ermittelt ($F_{PSPH} = 14,3 \text{ mg/l}$).

2. Bestimmung nach der Anweisung der Firma Merck (3):

Es wird die Extinktion des abzentrifugierten Serums von Leerwert und Probe nach Zusatz von 0,2 ml 1 N NaOH zu 2 ml Serum bei 546 nm und 1 cm Schichtdicke gemessen.

Berechnung: $(E_{P2} - E_{L2}) \cdot F_{PSPM} = \text{mg/l Phenolsulfonphthalein}_{60/60}$. Der Faktor F_{PSPM} wurde von der Firma Merck für Plasma ebenfalls empirisch ermittelt und beträgt nur die Hälfte des Faktors von HÖFFLER ($F_{PSPM} = 7,67 \text{ mg/l}$). Der von uns für die Phenolsulfonphthalein-Bestimmung im Serum für diese Methode verwendete und im Serumpool ermittelte Faktor beträgt 7,53 mg/l.

3. Eigene Bestimmung

Zu 1 ml Serum des Leerwertes und der Probe werden 2 ml 0,1M Natrium-Phosphatpuffer pH 11,5, der 0,01M Na₂-Äthylendiamintetraacetat enthält, gegeben und die Extinktion bei 546 nm und 1 cm Schichtdicke gemessen. Nach Zugabe von 0,1 ml einer 3,2M NaH₂PO₄-Lösung (pH 3,4) wird die Extinktion erneut gemessen.

Berechnung: $(E_{Pb} - E_{Ps}) - (E_{Lb} - E_{Ls}) \cdot F_{PSP} = \text{mg/l Phenolsulfonphthalein}_{60/60}$.

E = Extinktion, P = Kontrolle nach 60 Min., L = Leerwert, b = basisch, s = sauer. Der Faktor F_{PSP} wurde durch arithmetisches Mitteln der Steigungen mehrerer Eichkurven von Humansenen, die zugesetzte Mengen Phenolsulfonphthalein enthielten, empirisch bestimmt und betrug 21,9 mg/l. Die Eichkurven waren bis zu einer Konzentration von 12 mg/l Serum linear. Verschieden starke Eiweißkonzentrationen hatten keinen Einfluß auf den Faktor. Phenolsulfonphthalein zeigte in wäßr. Lösung bei 546 nm im Sauren eine Extinktion, die nur rund 10% des Wertes im Alkalischen betrug (bei der Konzentration $c = 0,3 \text{ mg/l}$ ist $E_b = 0,152$ und $E_s = 0,016$). Ein Einfluß auf die Extinktion durch Bindung des Phenolsulfonphthalein an Albumin

ist deshalb im Säuren zu vernachlässigen. Im Bestimmungsansatz wurde ein Überschuß des zum Umschlag des Farbstoffes notwendigen sauren und alkalischen Puffers verwendet (Abb. 2).

Wiederauffindung von Phenolsulfonphthalein im Serum:

10 verschiedene Humansenen wurden in 2 Portionen geteilt. Zum Leerwert wurden pro ml Serum 20 μ l bidest. Wasser, zur Probe 20 μ l wäßr. Phenolsulfonphthalein-Lösung zugesetzt, so daß sich im Serum der Probe eine Endkonzentration von 1,176 mg Phenolsulfonphthalein pro Liter Serum ergab. Aus jedem Ansatz wurde dann die Phenolsulfonphthalein-Konzentration nach allen drei Methoden bestimmt.

Ergebnisse

Die Titrationskurve in Abbildung 1 läßt erkennen, daß der Umschlag des Phenolsulfonphthalein in Serum als eiweißhaltiger Lösung im Bereich von pH 7 bis 10 erfolgt. Der Umschlag des Phenolsulfonphthaleins in wäßr. Lösung liegt zwischen pH 6,8 und 8,4 (4).

Die verwendeten Äquivalente alkalischen und sauren Puffers reichen aus, um einen vollständigen Farbumschlag des Phenolrots herbeizuführen (Abb. 2).

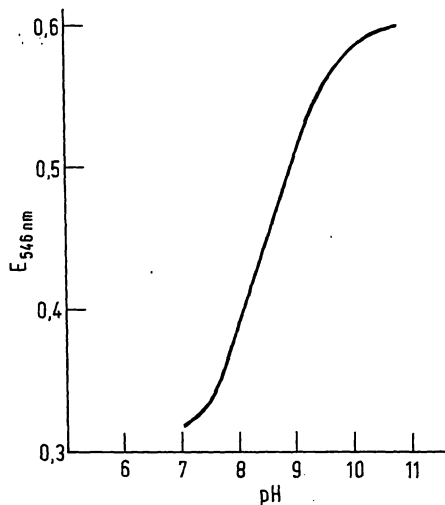


Abb. 1

Titration eines Serums, das 1,2 mg Phenolrot/l enthält, mit 1N NaOH

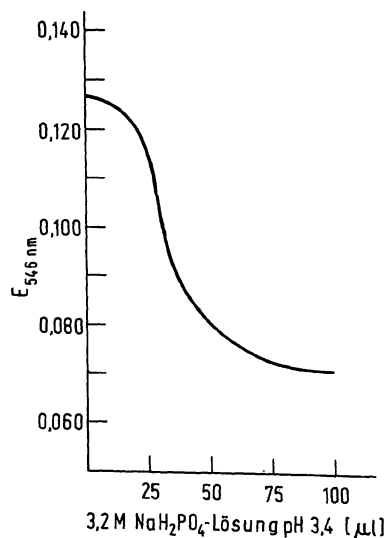


Abb. 2

Titration eines Puffer-Serumgemisches (2 Teile 0,1M Natriumphosphatpuffer, pH 11,5, 1 Teil Serum, das 1,2 mg Phenolrot/l enthält)

Tabelle 1 zeigt 3 typische der insgesamt 48 Ergebnisse von Phenolsulfonphthalein-Bestimmungen in Humanserum, die parallel nach den drei Methoden von HÖFFLER, der Firma Merck und der von uns entwickelten ermittelt wurden.

Liegt im Leerwert Hämolyse vor (B. 579), wird das Ergebnis bei der Methode der Firma Merck negativ, ist die Probe hämolytisch (H. 696), wird das Ergebnis mit dieser Methode zu hoch. Das gleiche trifft für unsere Methode zu, wenn wir ebenfalls nur die Extinktionen im Alkalischen in die Berechnung einsetzen (Tab. 1, letzte Spalte). Nur bei klaren und nicht hämolytischen Seren lassen sich mit Methode 2 und 3 übereinstimmende Ergebnisse erzielen (S. 235). Die mit Methode 1 erhaltenen Ergebnisse sind selbst dann noch nicht vergleichbar. Als uns bei weiteren Untersuchungen auffiel, daß abzentrifugierte Seren nach längerem Stehen beim Arbeiten mit der HÖFFLERSchen Methode stets niedrigere Phenolsulfonphthalein-Konzentrationen aufwiesen, vermuteten wir als Ursache eine pH-Verschiebung durch sinkenden CO_2 -Gehalt des Serums. Tabelle 2 zeigt die Ergebnisse der Messung eines an der Luft geschüttelten und anschließend mit einem Gasgemisch von 5% CO_2 in O_2 äquilibrierten Serums. Das saurere CO_2 -haltigere Serum ergibt eine höhere Phenolrotkonzentration. Tabelle 3 läßt erkennen, daß die Ergebnisse der Methode von Merck und die der eigenen Methode in der Fehlerbreite der Meßgenauigkeit um den Sollwert schwanken, die Ergebnisse der Methode von HÖFFLER jedoch nur

Tab. 1
Vergleich der Phenolsulfonphthalein $_{60/60}$ -Bestimmung im Serum

Aufnahme-Nr.	Bemerkungen	1. Methode Höffler	2. Methode Merck	3. Eigene Methode
		E_{L1} E_{L2} ΔE_L	E_{P1} E_{P2} ΔE_P	E_{Lb} E_{Ls} ΔE_L E_{Pb} E_{Ps} ΔE_P
Ergebnisse in mg Phenolrot/l Serum				
B. 579	Leerwert	0,541	0,291	0,433
	hämolytisch	0,433	0,340	0,340
		-0,108	+0,049	-0,093
		2,25	x	0,007
				0,046
				x
H. 696	Probe	0,161	1,27	0,146
	hämolytisch	0,146	1,07	1,07
		-0,015	-0,20	0,924
		x	6,96	0,005
				0,049
				0,394
				8,62
S. 235		0,175	0,251	0,126
		0,126	0,380	0,380
		-0,049	+0,129	0,254
		2,55	1,91	0,004
				1,93
				1,94

x = kein sinnvolles Ergebnis. Definitionen der Indices s. Methodik.

Tab. 2
Abhängigkeit der Bestimmung der Phenolrotkonzentration nach HÖFFLER vom CO_2 -Partialdruck des Serums

Äquilibrierung:	pH:	E_{L1}	E_{L2}	E_{P1}	E_{P2}	mg Phenolrot/l Serum:
		ΔE_L		ΔE_P		
mit Luft	>8,0	0,185	0,184	0,290	0,314	0,36
		-0,001		0,024		
mit Gasgemisch 5% CO_2 in O_2	7,3	0,186	0,182	0,266	0,306	0,63
		-0,004		0,040		

Didakta medica

Forum für Lehren und Lernen in der Medizin

Die Zeitschrift „Didakta medica“ wird der Konzentration didaktischer Bemühungen in den medizinischen Fakultäten und dem Informationsaustausch dienen. Sie will aber auch selbst medizindidaktische Projekte verfügbar machen, damit sie jedem Interessierten als Ganzes oder in den für ihn bedeutungsvollen Teilen zur Verfügung stehen.

Vierteljährlich ein Heft von etwa 40 Seiten, Jahresbezugspreis DM 52,- zuzüglich Porto
Verlangen Sie Information und ein Heft mit Rückgaberecht

J. F. LEHMANN'S VERLAG MÜNCHEN

neues Lehrbuch für Dozenten und Studenten der Pharmazie — Pharmakologen — Biologen — Lebensmittelchemiker — Toxikologen —
Pharmazeutische Industrie

Arzneimittelwirkungen

Lehrbuch der Pharmakologie für Pharmazeuten, Chemiker und Biologen. Mit einführenden Kapiteln in die Anatomie und Physiologie

Von Prof. Dr. rer. nat. Dr. med. ERNST MUTSCHLER, Pharmazeutisches Institut der Universität Mainz
1970. Etwa XVI, 470 Seiten. 77 Abbildungen und graphische Darstellungen, 78 Tabellen. Gr.-8°. Leinwand DM 48,—

Adiesem Buch

Das bekannte Lehrbuch von Prof. Merz „Grundlagen der Pharmakologie“, das in vielen Auflagen der Ausbildung des Nichtmediziners auf dem Gebiete der Pharmakologie diente, findet in diesem neuen Lehrbuch von Prof. Mutschler mit eigener Konzeption und Systematik seine Weiterführung. Es handelt sich nicht um eine Neubearbeitung des alten „Merz“ sondern um ein völlig neu erarbeitetes Lehrbuch.

In knapper Form und unter Berücksichtigung pharmazeutisch-chemischer und biochemischer Gesichtspunkte werden Wirkungen und Nebenwirkungen von Arzneimitteln beschrieben. Zugleich vermittelt das Werk die für das Verständnis der Arzneimittelwirkungen erforderlichen medizinischen Grundkenntnisse. Außerdem enthält das Werk einen ausführlichen toxikologischen Teil und eine Vergiftungstabelle, die eine schnelle Information über die Möglichkeiten zur Behandlung von Vergiftungen erlaubt.

Das Werk ist nach didaktischen Gesichtspunkten aufgebaut. Viele tabellarische Übersichten erleichtern das Verständnis. Auf die Beschreibung experimenteller pharmakologischer Methoden und die vollständige Erfassung von Arzneispezialitäten wurde zugunsten eines besseren Überblicks verzichtet. Mechanismen der Arzneimittelwirkungen und die Zusammenhänge zwischen chemischer Struktur und pharmakologischer Wirkung wurden berücksichtigt.

Allgemeiner Teil: Definitionen — Wirkungsbedingungen — Dosis- bzw. Konzentrations-Wirkungs-Beziehungen — Rezeptor-Theorie — Beziehungen zwischen der chemischen Struktur und pharmakologischen Wirkung — Wirkungsmechanismen — Nebenwirkungen von Pharmaka.

Spezieller Teil: Nervensystem — Innersekretorische Drüsen und ihre Hormone — Kreislauf — Niere und ableitende Harnwege — Magen-Darm-Kanal — Essentielle Substanzen — Prophylaxe und Therapie von Infektionskrankheiten — Chemotherapie maligner Tumoren — Vergiftungen — Weiterführende Literatur — Medizinische Fachausdrücke — Sach- und Namenverzeichnis

Bitte verlangen Sie unseren ausführlichen Sonderprospekt mit dem Abdruck einiger Originalseiten aus dem Buch

 WISSENSCHAFTLICHE VERLAGSGESELLSCHAFT MBH STUTTGART
7000 Stuttgart 1, Postfach 40, Birkenwaldstraße 44, Tel. (07 11) 29 25 59

EINLADUNG zur SUBSKRIPTION

Im Oktober erscheint in Neuauflage - jetzt in 2 Bänden:

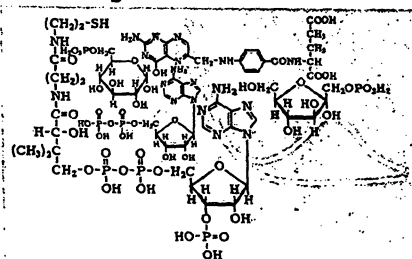
Methoden
der

enzymatischen Analyse

Herausgeber
Hans-Ulrich
Bergmeyer

Herausgegeben von
Hans-Ulrich Bergmeyer

Methoden der enzymatischen Analyse Band 1



Verlag Chemie

Mit Beiträgen von 230 Autoren. 1970. 2., wesentlich erweiterte und neubearbeitete Auflage. 2 Bände. Ca. XXXII, 2400 Seiten mit ca. 215 Abbildungen und ca. 470 Tabellen. Leinen. Subskriptionspreis DM 248,-; endgültiger Ladenpreis DM 285,-. Die Subskriptionsfrist endet am 1. Oktober 1970. Beide Bände werden nur zusammen abgegeben.

Die Entwicklung der enzymatischen Analytik ist so stürmisch verlaufen, die Neuerungen sind so umfangreich und vielseitig, daß es an der Zeit war, das Buch grundlegend zu überarbeiten. So ist, aufgebaut auf dem Konzept der Erstauflage, ein neues Werk entstanden. Der Umfang der Neuauflage hat sich verdoppelt. Aus diesem Grund erscheint das Werk jetzt in zwei Bänden. Jeder Band enthält das vollständige Register, das Abkürzungsverzeichnis und die gesamte Inhaltsangabe.

Die Vielzahl neuer enzymatischer Analysenmethoden, der Fortschritt in den verschiedenen Meßtechniken, grundsätzlich neue Meßprinzipien, Mecha-

nisierung der Arbeitsplätze erforderten erhebliche Ergänzungen, die voll berücksichtigt sind. So mußte auch das Kapitel „Experimentelles“ wesentlich erweitert werden.

Die bewährte Aufteilung des Werkes in vier Abschnitte ist unverändert geblieben. Auch der Aufbau der einzelnen Kapitel ist im wesentlichen beibehalten worden. Das Meßprinzip wird durchweg, auf einen Blick überschaubar, als Formel dargestellt. Das Kernstück jeder Methode, das Pipettierschema, ist als Tabelle mit Angabe der „Konzentration in Test“ besonders hervorgehoben. Neu ist die Angabe der Zusammensetzung der Tests für Enzymaktivitäten im Abschnitt „Die biochemischen Reagentien“.

Die 2., wesentlich erweiterte und neubearbeitete Auflage des großen Laboratoriumsbuches wird auch Ihre Arbeit erleichtern und Ihnen Zugang zu den neuesten Arbeitsmethoden verschaffen.

Ein Sonderprospekt steht zur Verfügung.

37 Mark sparen Sie durch unser Subskriptionsangebot!

Es lohnt sich also, die Bestellung sofort aufzugeben.

Verlag Chemie · Weinheim/Bergstr. · Pappelallee 3

Tab. 3

Wiederauffindung von zugesetztem Phenolsulfonphthalein in 10 verschiedenen Humansen (c = 1,176 mg/l)

	N	\bar{x} (mg/l)	s (mg/l)	Vk (%)
Methode von HÖFFLER	10	0,56	$\pm 0,06$	10,3
Methode der Fa. Merck	10	1,20	$\pm 0,03$	2,25
Eigene Methode	10	1,15	$\pm 0,03$	2,47

die Hälfte der vorgegebenen Phenolsulfonphthalein-Konzentration anzeigen und außerdem einen sehr hohen Variationskoeffizienten ergeben.

Diskussion

Als erstes fällt der Unterschied der Faktoren von HÖFFLER einerseits und Merck und uns andererseits auf. Rechnet man auf gleiche Volumina um, so liegt HÖFFLERS Faktor um etwa 100% höher als der von uns und Merck ermittelte. Als einzige Erklärung ist hierfür der pH-Wert des Serums heranzuziehen, bei dem nach HÖFFLER die Extinktion der Probe vor Zusatz von Natronlauge gemessen wird. Der pH-Wert frischen Serums liegt, wie schon erwähnt, im Umschlagsbereich des Phenolsulfonphthaleins. HÖFFLER gibt nicht exakt die Bedingungen an, unter denen er seinen Faktor bestimmt hat.

Es bleibt unklar, ob er immer vom gleichen pH-Wert bei der Messung von E_{P1} ausgeht. Jedenfalls ist zu vermuten, daß beim pH-Wert des Serums von etwa 7,4 oder darüber bereits ein Teil des Phenolsulfonphthaleins umgeschlagen ist und daß durch die Zugabe der Natronlauge nur noch der restliche Teil des Phenolsulfonphthaleins erfaßt wird. Da er aber auf die gesamte Menge Phenolsulfonphthalein zurückgerechnet hat, kam er zu einem Faktor, der um 100% zu hoch liegt. Leider berichtet HÖFFLER nicht von Wiederauffindungsversuchen. Hiermit wäre der Fehler unter Umständen deutlich geworden.

Zusätzlich ist HÖFFLERS Bestimmung noch stark pH-abhängig. Der CO_2 -Partialdruck des Serums setzt sich beim Stehen oder Schütteln mehr oder weniger schnell mit dem CO_2 -Partialdruck der Atmosphäre ins Gleichgewicht, das Serum wird alkalischer (Tab. 2). Werden andererseits die Erythrocyten und Leukocyten nicht abgetrennt und die Glykolyse nicht gehemmt, so bilden die Blutzellen unter den anaeroben Bedingungen im Blutkoagulum fixe Säuren, der pH-Wert des Serums tendiert eher zum Säuren. Je nachdem, welche Bedingungen zwischen Blutentnahme und Bestimmung des Phenolsulfonphthaleins eingehalten werden, ergeben sich mit der Methode von HÖFFLER entweder zu hohe oder zu niedrige Phenolsulfonphthalein_{60/60}-

Werte. Die Firma Merck hat mit ihrer Bestimmung diese Fehlerquelle ausgeschaltet, indem sie nur die Extinktionen der beiden alkalisierten Seren E_{P2} und E_{L2} mißt. Hierbei ist jedoch zu bedenken, daß bei der niedrigen Phenolsulfonphthalein-Konzentration, die im Serum nach 60 Min. vorliegt, sich geringste Hämolysen sehr nachdrücklich bemerkbar machen. SCHWARTZKOPFF (5) empfiehlt deshalb, die drei- bis fünffache Menge Phenolsulfonphthalein zu injizieren.

Schließlich wirken sich bei beiden Methoden, bei denen unverdünntes Serum verwendet wird, Trübungen sehr störend auf die Messungen aus. Besonders lipämisches Serum ist nicht zu verwenden. Das Verdünnen des Serums war notwendig, um eventuellen Trübungen beim Alkalisieren und Ansäuern des Serums zu begegnen. Gleichzeitig ließen sich leichte Trübungen des unverdünnten Serums hiermit beseitigen.

Entscheidend ist, daß bei unserer Methode der gesamte Farbumschlag des Phenolsulfonphthaleins vom Alkalischen zum Säuren erfaßt wird. Gelegentlich im Serum auftretende bei 546 nm absorbierende Substanzen wie z. B. Bilirubin oder Carotin dürften innerhalb einer Stunde beim nüchternen Patienten keine größeren Konzentrationsänderungen erfahren und damit durch den Leerwert eliminierbar sein. Ob ein Konzentrationsunterschied von Farbstoffen, die bei der vorliegenden Wellenlänge eine Extinktion bewirken, zwischen Leerwert und Probe vorliegt, läßt sich bei unserer Methode anhand einer größeren Differenz von E_{Ls} und E_{Ps} erkennen. Die Phenolrotprobe muß aber erst dann wiederholt werden, wenn der störende Farbstoff im Alkalischen und Säuren eine unterschiedliche Extinktion zeigt. Beim Hämoglobin ist ein derartiger Unterschied im Bereich von 546 nm gering (Tab. 1). Leicht hämolytische Seren, die in der Routine häufiger vorkommen, können deshalb bei unserer Methode noch verwendet werden. Notfalls könnte durch Bestimmen der Hämoglobinkonzentration eine Korrektur der Extinktionen vorgenommen werden.

Bei der Erprobung einer unabhängigen absoluten Phenolsulfonphthalein-Bestimmung stellte sich in Vorversuchen heraus, daß das von der Firma Merck vertriebene Phenolrot keine einheitliche Substanz ist, sondern mehrere im UV-Licht fluoreszierende Bestandteile enthält (6). Normalwerte können wir deshalb erst erstellen, wenn die Zweifel, ob die Reinheit des Farbstoffes den klinischen Anforderungen genügt, beseitigt sind.

Wir danken Frau BEINHÄUER und Frau LOTH für ihre sorgfältige Mitarbeit.

Literatur

1. HÖFFLER, D., G. OFFERMANN und H. FRENZ, Deutsch. Med. Wschr. 93, 397 (1968). — 2. HÖFFLER, D., G. OFFERMANN und H. FRENZ, Deutsch. Med. Wschr. 93, 443 (1968). — 3. JENDE, S., persönliche Mitteilung. — 4. Documenta GEIGY, Wissenschaftliche

Tabellen, 7. Aufl., Basel (1968). — 5. SCHWARTZKOPFF, W., Z. ges. exp. Med. 150, 120 (1969). — 6. MAROWSKI, B. und W. FABRICIUS, in Vorbereitung.

Dr. W. Fabricius
Siemens Aktiengesellschaft
Zweigniederlassung Berlin, Vertrieb Datentechnik
1 Berlin 61, Schöneberger Str. 2-4